

PATENT APPLICATION

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE



In re application of

Docket No: Q78308

Kazutoshi SUZUKI, et al.

Appln. No.: 10/699,743

Group Art Unit: Not yet assigned

Confirmation No.: Not yet assigned

Examiner: Not yet assigned

Filed: November 04, 2003

For: **PHENYLOXYANILINE DERIVATIVES**

SUBMISSION OF PRIORITY DOCUMENT

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

Submitted herewith is a certified copy of the priority document on which a claim to priority was made under 35 U.S.C. § 119. The Examiner is respectfully requested to acknowledge receipt of said priority document.

Respectfully submitted,

Mark Boland

Mark Boland
Registration No. 32,197

SUGHRUE MION, PLLC
Telephone: (202) 293-7060
Facsimile: (202) 293-7860

WASHINGTON OFFICE
23373
CUSTOMER NUMBER

Enclosures: Japan 2003-004251

Date: February 10, 2004

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2003年 1月10日
Date of Application:

出願番号 特願2003-004251
Application Number:

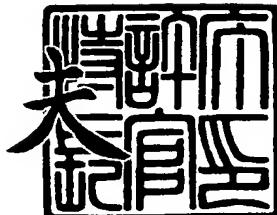
[ST. 10/C] : [JP 2003-004251]

出願人 独立行政法人放射線医学総合研究所
Applicant(s): 大正製薬株式会社
日本農薬株式会社

2003年11月13日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康



【書類名】 特許願

【整理番号】 00YA-P3423

【特記事項】 特許法第30条第1項の規定の適用を受けようとする特許出願

【あて先】 特許庁長官殿

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県千葉市稲毛区穴川四丁目9番1号 独立行政法人
放射線医学総合研究所内

【氏名】 鈴木 和年

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県千葉市稲毛区穴川四丁目9番1号 独立行政法人
放射線医学総合研究所内

【氏名】 張 明栄

【発明者】

【住所又は居所】 千葉県千葉市稲毛区穴川四丁目9番1号 独立行政法人
放射線医学総合研究所内

【氏名】 須原 哲也

【発明者】

【住所又は居所】 東京都豊島区高田3丁目24番1号 大正製薬株式会社
内

【氏名】 中里 篤郎

【発明者】

【住所又は居所】 東京都中央区日本橋1丁目2番5号 日本農薬株式会社
内

【氏名】 後藤 誠

【特許出願人】

【識別番号】 301032942

【氏名又は名称】 独立行政法人放射線医学総合研究所

【代表者】 佐々木 康人（理事長）

【特許出願人】

【識別番号】 000002819

【氏名又は名称】 大正製薬株式会社

【代表者】 上原 明

【特許出願人】

【識別番号】 000232623

【氏名又は名称】 日本農薬株式会社

【代表者】 大内 健吉

【代理人】

【識別番号】 100115406

【弁理士】

【氏名又は名称】 佐鳥 宗一

【選任した代理人】

【識別番号】 100122437

【弁理士】

【氏名又は名称】 大宅 一宏

【選任した代理人】

【識別番号】 100074114

【弁理士】

【氏名又は名称】 北川 富造

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 003551

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 9703058

【包括委任状番号】 0217520

【包括委任状番号】 0217879

【プルーフの要否】 要

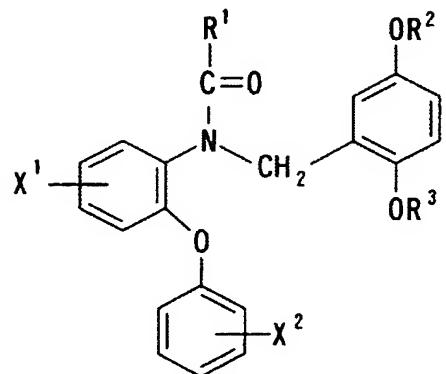
【書類名】 明細書

【発明の名称】 フェニルオキシアニリン誘導体

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 式

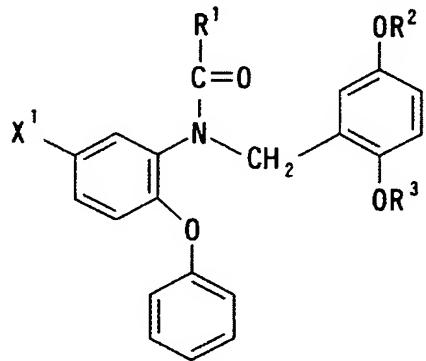
【化1】



(式中、 X^1 及び X^2 は同一若しくは異なって水素原子又はハロゲン原子であり、 R^1 及び R^2 は同一若しくは異なって水素原子、炭素数1～10のアルキル基又はハロゲン原子で置換された炭素数1～10のアルキル基であり、 R^3 はハロゲン原子で置換された炭素数1～5のアルキル基である。) で表されるフェニルオキシアニリン誘導体又はその放射性同位体。

【請求項 2】 式

【化2】



(式中、 X^1 は水素原子又はハロゲン原子であり、 R^1 及び R^2 は同一若しくは異なる水素原子、炭素数1～10のアルキル基又はハロゲン原子で置換された炭素数1～10のアルキル基であり、 R^3 はハロゲン原子で置換された炭素数1～

5のアルキル基である。) で表されるフェニルオキシアニリン誘導体又はその放射性同位体。

【請求項3】 ハロゲン原子がフッ素原子、ヨウ素原子又は臭素原子である請求項1又は2記載のフェニルオキシアニリン誘導体又はその放射性同位体。

【請求項4】 請求項1～3のいずれか記載のフェニルオキシアニリン誘導体又はその放射性同位体の末梢性ベンゾジアゼピン受容体標識リガンドとしての利用。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、末梢性ベンゾジアゼピン受容体に高い親和性を有する化合物に関する。

【0002】

【従来の技術】

ベンゾジアゼピン (BZ) 受容体は中枢性と末梢性に分けられている。末梢性ベンゾジアゼピン受容体 (PBR) は当初末梢で確認されたが、中枢にもその存在が認められた。さらに、PBRは中枢における密度が高く、同領域の中枢性ベンゾジアゼピン受容体 (CBR) と同等ないし高いことが明らかとなった。最近の研究により、PBRは脳内のミクログリア細胞中に存在し、脳内でミクログリアが活性化するアルツハイマー病などの精神神経疾患で増加することが報告されている。

【0003】

従来のPBRリガンドであるN-メチル-N-(メチル-1-プロピル)-(クロロ-2-フェニル)-1-イソキノリンカルボキサミド-3 (以下PK11195) の¹¹C標識体では脳のグリオーマやアルツハイマー病の診断における有用性が報告されているが、このものは脳への集積が極めて低く、定量解析には問題があった。positron emission tomograph (PET) を用い生きたヒトの脳内PBR分布を画像化するにあたって、高い信号の得られるPBRリガンドの開発が望まれており、N-(2,5-ジメトキシベンジル)-N-(5-フルオロ-2-フェノキシフ

エニル)アセタミド(以下DAA1106)(特許文献1)が強い親和性と高い選択性を有することからこの目的に適していることが明らかになった。

【0004】

【特許文献1】

特開平11-171844号

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

本発明の目的は、強い親和性と高い選択性を有するPBRのリガンドとしての有用な化合物を提供し、これまで十分な信号を得ることができなかつたPBRの対外計測において強い親和性と高い選択性を有するPBRのリガンドをポジトロン核種で標識し、生体でのPBRの測定を可能とすることにある。これによって、統合失調症、うつ病、てんかん、アルツハイマー病などの中枢性疾患の早期診断を可能とすることにある。また、従来のBZ類では満足できる治療効果が得られない症状に対し有効で、かつBZ類で認められる過度の鎮静あるいは精神依存性などの副作用を示さない不安及びその関連疾患、うつ病、てんかんなどの中枢性疾患の治療作用及び予防効果を示すPBRに高い親和性を有する薬物を提供することにある。

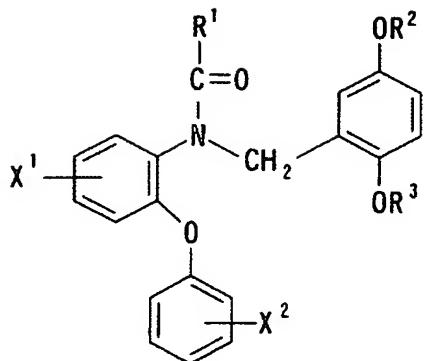
【0006】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは前記課題を解決する目的で銳意探索研究した結果、特開平11-171844号に記載の化合物のアルキル基をハロゲン化されたアルキル基とすることにより格段に優れたPBR親和性を示すことを見出し、本発明を完成した。すなわち、本発明は、下記式(1)

【0007】

【化3】



(1)

【0008】

(式中、X¹及びX²は同一若しくは異なって水素原子又はハロゲン原子であり、R¹及びR²は同一若しくは異なって水素原子、炭素数1～10のアルキル基又はハロゲン原子で置換された炭素数1～10のアルキル基であり、R³はハロゲン原子で置換された炭素数1～5のアルキル基である。)で表されるフェニルオキシアニリン誘導体又はその放射性同位体を提供するものである。また他の本発明は、上記フェニルオキシアニリン誘導体又はその放射性同位体の末梢性ベンゾジアゼピン受容体標識リガンドとしての利用に関する。

【0009】

本発明においてハロゲン原子とはフッ素原子、塩素原子、臭素原子又はヨウ素原子であり、好ましくはフッ素原子、ヨウ素原子又は臭素原子であり、更に好ましくはフッ素原子又はヨウ素原子である。

炭素数1～10のアルキル基とは直鎖状又は分枝状のアルキル基を意味し、例えばメチル基、エチル基、n-プロピル基、イソプロピル基、n-ブチル基、n-ヘプチル基などが挙げられる。

【0010】

ハロゲン原子で置換された炭素数1～10のアルキル基とはハロゲン原子の1～3個で水素原子が置換された直鎖状又は分枝状のアルキル基を意味し、好ましくはフッ素原子又はヨウ素原子で置換されたアルキル基である。それらとしては、例えばフルオロメチル基、2-フルオロエチル基、2-ヨウ化エチル基、5-

フルオロヘプチル基、6-ブロモヘキシル基などが挙げられる。ハロゲン原子で置換された炭素数1～5のアルキル基とはハロゲン原子の1～3個で水素原子が置換された直鎖状又は分枝状のアルキル基を意味し、好ましくはフッ素原子又はヨウ素原子で置換されたアルキル基である。それらとしては、例えばフルオロメチル基、2-フルオロエチル基、2-ヨウ化エチル基、5-フルオロヘプチル基などが挙げられる。

[0 0 1 1]

本発明において、放射性同位体とは、式（1）中に含まれる原子を放射性同位元素で置換したものを意味する。すなわち、式（1）中のX¹、X²、R¹、R²及びR³で定義されるアルキル基の炭素原子及びハロゲン原子の少なくとも1原子が放射性同位元素で置換したものであり、例えば¹¹C、¹⁸F、¹²³Iなどで置換したものを挙げることができる。

{0 0 1 2}

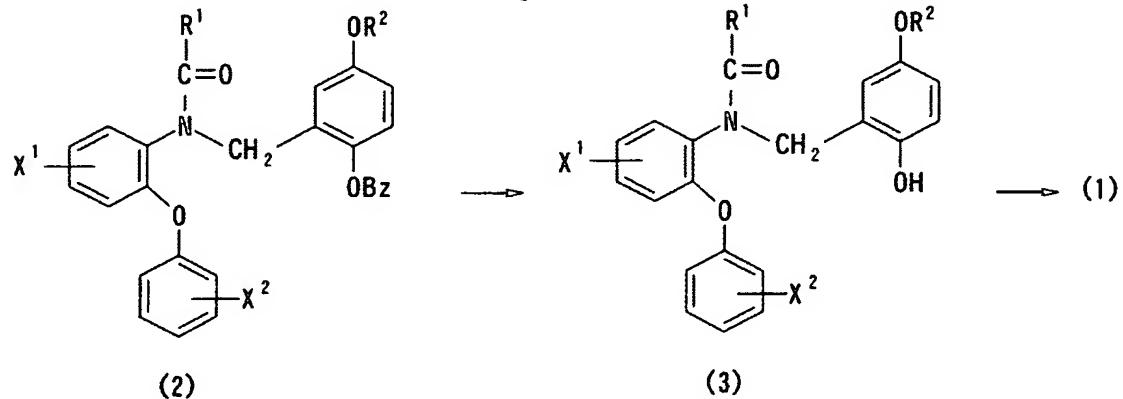
【発明の実施の形態】

本発明化合物は、特開平11-171844号に記載の方法と同様に製造される化合物から、下記反応式で示される方法で製造することができる（反応式中、Bzはベンジル基であり、X¹、X²、R¹、R²及びR³は前記と同意義である。）

○

[0 0 1 3]

【化 4】



(0 0 1 4)

すなわち、式(2)で表されるN-(2-ベンジルオキシ-5-アルコキシベンジル)-N-(フェノキシフェニル)アシルアミド化合物を、還元等の条件でベンジル基を外して式(3)で表されるN-(2-ヒドロキシ-5-アルコキシベンジル)-N-(フェノキシフェニル)アシルアミド化合物とし、次いで、これを式R³-X(式中、R³は前記と同意義であり、Xはアルキル化における脱離基である。)と塩基の存在下又は非存在下反応させることによって容易に得られる。アルキル化における脱離基とは、ヨウ素、臭素などのハロゲン原子、トルエンスルホニル基、パラトルエンスルホニル基、メタンスルホニル基などのスルホニル基などである。塩基とはトリエチルアミン、ジイソプロピルエチルアミン、ピリジンなどの有機アミン類、炭酸カリウム、水酸化ナトリウム、水素化ナトリウム、金属ナトリウムなどの無機塩基類、ナトリウムメトキシド、カリウムメトキシドなどの金属アルコラートなどである。

【0015】

【実施例】

以下、実施例を挙げて本発明を更に詳しく説明する。

実施例1

N-(2-フルオロメチル-5-メトキシベンジル)-N-(5-フルオロ-2-フェノキシフェニル)アセタミド(以下FMDAA1106)の製造

N-(2-ヒドロキシ-5-メトキシベンジル)-N-(5-フルオロ-2-フェノキシフェニル)アセタミド(以下DAA1123)(18mg)をN,N-ジメチルスルホキシド(DMF 1.0mL)に溶解させた溶液に油性水素化ナトリウム(60%)5.1mgを加えて0℃で攪拌した後、フルオロメチルヨーダイド(FCH₂I)1.0mgを加えて、さらに0℃で1時間攪拌した。反応液に水を加えて酢酸エチルにて抽出し、有機層を飽和食塩水にて洗浄後、無水硫酸マグネシウムにて乾燥した。溶媒を減圧下留去して得た粗生成物をシリカゲルカラムクロマトグラフィー(クロロホルム:ヘキサン:酢酸エチル=1:3:1にて溶出)にて精製し、表記の化合物1.6mgを得た。

融点 71~72℃

【0016】

実施例2

N- (2-[¹⁸F]フルオロメチル-5-メトキシベンジル) -N- (5-フルオロ-2-フェノキシフェニル) アセタミド (以下[¹⁸F]FMDAA1106) の製造

[¹⁸F]フッ素 ([¹⁸F]F) は 20 atom%H₂¹⁸Oを用い、 18 MeVプロトンの照射によって生産された。照射後、 [¹⁸F]F-をターゲットから回収し、 Dowex 1-X8アニオン交換樹脂により [¹⁸O]H₂Oから分離した後、 Kryptofix 2.2.2. (25mg) を含有したアセトニトリル (CH₃CN 1.5mL) と混合した後、 照射室から合成セルに移送した。合成セルで [¹⁸F]Fを乾燥したのち、 130°Cでジヨードメタン (CH₂I₂) を反応容器に注入した。注入と同時にヘリウムガスによって生成した [¹⁸F]F CH₂IをDAA11 23 1 mgと水素化ナトリウム (6.8 μL, 0.5g/20mL) のDMF (300mL) 溶液にバブリングした。この過程を室温で 10 分間持続させた後、 反応混合物を逆相セミ分離HPLC (YMCJ'sphere ODS-H80カラム, 10mmID×250mm) に注入した。移動相がCH₃CN/H₂Oで、 流速が6mL/minで [¹⁸F]FMDAA1106のフラクションを取得した。本フラクションに対し、 減圧下で溶媒を除去し、 生理食塩水 (10mL) に溶解し、 0.22 μm ミリポアフィルターを通過し、 [¹⁸F]FMDAA1106 (110MBq, n=3) を最終製剤として得ることができた。 (照射条件：15min, 15 μA)。なお、 合成時間が照射終了時から約 4 5 分間を要した。

【0017】

実施例3

N- [2- (2-フルオロ) エチル-5-メトキシベンジル] -N- (5-フルオロ-2-フェノキシフェニル) アセタミド (以下FEDAA1106) の製造

実施例1と同様な操作により、 フルオロメチルヨーダイド (FCH₂I) に代わり 1-フルオロ-2-トシロキシエタン (FCH₂CH₂OTs) を用い表記の化合物 20 mgを得た。

融点 54～56°C

【0018】

実施例4

N- [2- (2-[¹⁸F]フルオロ) エチル-5-メトキシベンジル] -N- (5-フルオロ-2-フェノキシフェニル) アセタミド (以下[¹⁸F]FEDAA1106) の



製造

実施例2と同様な操作により、ジヨードメタン (CH_2I_2) の代わりに2-ブロモエチルトリフレート ($\text{BrCH}_2\text{CH}_2\text{OTf}$) を用い表記の化合物を得た。

【0019】

試験例

Sihver, S. らのJ. Pharmacol. Exp. Ther. 1999, 290, 917. 及びZhang, M.-R らのNucl. Med. Biol. 2002, 29, 469. に記載の従来法により、インビトロにおけるPBRに対する親和性を調べた。

【0020】

エーテル麻酔下で雄Sprague-Dewlayラット(250-300g, n=4)を屠殺後、脳を素早く切断し、ドライアイス中で凍結させた。Cryostat microtome(MICROM HM560, GmbH, Germany)を使い、ラットの矢状型切片を作成した。この切片を50mM Tris buffer(pH=7.4)中で30分間あらかじめインキュベーションを行った。その後切片を取り出し、以下の種々の試薬を含めた50mM Tris buffer(pH=7.4)中に再びインキュベーションを37℃で30分間で同時にそれぞれ行った。

【0021】

試薬：

1. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM)
2. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + DAA1106(0.1 nM)
3. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + DAA1106(0.33 nM)
4. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + DAA1106(1 nM)
5. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + DAA1106(3.3 nM)
6. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + DAA1106(10 nM)
7. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + DAA1106(33 nM)
8. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + DAA1106(100 nM)
9. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + DAA1106(1 μ M)
10. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + DAA1106(10 μ M)

【0022】

11. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + PK11195(0.1 nM)

12. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + PK11195 (0.33 nM)
13. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + PK11195(1 nM)
14. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + PK11195(3.3 nM)
15. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + PK11195(10 nM)
16. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + PK11195(33 nM)
17. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + PK11195(100 nM)
18. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + PK11195(1 μM)
19. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + PK11195(10 μM)

【0023】

20. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FMDAA1106(0.1 nM)
21. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FMDAA1106(0.33 nM)
22. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FMDAA1106(1 nM)
23. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FMDAA1106(3.3 nM)
24. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FMDAA1106(10 nM)
25. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FMDAA1106(33 nM)
26. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FMDAA1106(100 nM)
27. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FMDAA1106(1 μM)
28. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FMDAA1106(10 μM)

【0024】

29. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FEDAA1106(0.1 nM)
30. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FEDAA1106(0.33 nM)
31. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FEDAA1106(1 nM)
32. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FEDAA1106(3.3 nM)
33. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FEDAA1106(10 nM)
34. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FEDAA1106(33 nM)
35. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FEDAA1106(100 nM)
36. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FEDAA1106(1 μM)
37. $[^{11}\text{C}]\text{DAA1106}$ (1 nM) + FEDAA1106(10 μM)

【0025】

インキュベーションが終了後、切片を取り出し、氷冷したTris buffer中2分間2回浸した。また、これらの切片を氷冷した蒸留水に浸した後、乾燥した。前記切片をイメージングプレート(BAS-SR 127, 富士写真フィルム社製)に1時間コンタクトした後、FUJIX BAS 1800 bioimaging analyzer(富士写真フィルム工業社製)にて切片上の放射能分布を調べた。関心領域(ROI)を嗅球と定め、放射能をphoto-stimulated-luminescence(PSL)/mm² regionに表した。異なる濃度のDAA1106、PK11156、FMDAA1106及びFEDAA1106存在下の[¹¹C]DAA1106の特異結合を求め、probit法によってこれらの薬物のIC₅₀(nM)を算出した。

【0026】

その結果を表1に示した。表1に示したように、FEDAA1106はDAA1106より2倍高いPBR親和性を示した。一方、FMDAA1106はDAA1106と同様な親和性を示した。この結果、メトキシ基のかわりに、フルオロエチル基は親和性の増強に起因し、フルオロメチル基は親和性に影響しなかった。また、FEDAA1106はもっとも使用されているPK11195より親和性が10倍強かった。一方、CBRの選択的なリガンド[¹¹C]flumazenilを用いることによってFMDAA1106とFEDAA1106の中枢性ベンゾゼアゼピン受容体(CBR)に対する親和性を調べた(表1)。その結果、FEDAA1106とFMDAA1106はCBRの親和性が10 μM以上で、PBRの親和性より1万倍弱かった。以上の結果より、FEDAA1106とFMDAA1106はPBRに強い親和性を示しながら、CBRへの親和性をほぼ示さなかった。なお、二つのリガンドの分配係数(log P)はオクタノール/水(pH 7.4)分配法によって測定された。

【0027】

【表1】

表1

試薬	IC ₅₀ (nM)		
	P B R	C B R	log P
FMDAA1106	1.71	>10000	3.70
FEDAA1106	0.77	>10000	3.81
DAA1106	1.62	>10000	3.65
PK11195	8.26	>10000	-

【0028】

【発明の効果】

本発明により、強い親和性と高い選択性を有するP B Rのリガンドとしての有用な化合物が提供された。これまで十分な信号を得ることができなかつたP B Rの対外計測において強い親和性と高い選択性を有するP B Rのリガンドをポジトロン核種で標識し、生体でのP B Rの測定が可能となった。これによって、統合失調症、うつ病、てんかん、アルツハイマー病などの中枢性疾患の早期診断が可能となった。

【0029】

また、本発明の化合物は、睡眠障害、筋硬直に伴う運動障害、摂食障害、循環障害、認知学習障害、薬物依存症、癌、脂質代謝障害、精神分裂病、脳梗塞、A I D S、アルツハイマー病及びハンチントン舞蹈病などの治療薬として有用である。

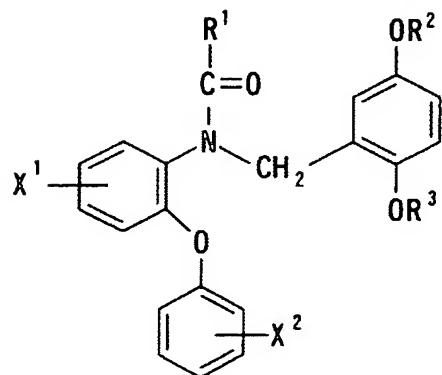
【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 強い親和性と高い選択性を有する末梢性ベンゾジアゼピン受容体のリガンドとしての有用な化合物を提供すること。

【解決手段】 式

【化5】



(式中、X¹及びX²は同一若しくは異なって水素原子又はハロゲン原子であり、R¹及びR²は同一若しくは異なって水素原子、炭素数1～10のアルキル基又はハロゲン原子で置換された炭素数1～10のアルキル基であり、R³はハロゲン原子で置換された炭素数1～5のアルキル基である。) で表されるフェニルオキシアニリン誘導体又はその放射性同位体。

【選択図】 なし

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2003-004251
受付番号	50300032617
書類名	特許願
担当官	山内 孝夫 7676
作成日	平成15年 3月 5日

<認定情報・付加情報>

【提出日】 平成15年 1月10日

次頁無

特願2003-004251

出願人履歴情報

識別番号 [301032942]

1. 変更年月日 2001年 5月16日
[変更理由] 新規登録
住 所 千葉県千葉市稲毛区穴川4-9-1
氏 名 独立行政法人放射線医学総合研究所

2. 変更年月日 2002年 5月30日
[変更理由] 住所変更
住 所 千葉県千葉市稲毛区穴川四丁目9番1号
氏 名 独立行政法人放射線医学総合研究所

特願2003-004251

出願人履歴情報

識別番号 [000002819]

1. 変更年月日 1990年 8月22日

[変更理由] 新規登録

住所 東京都豊島区高田3丁目24番1号
氏名 大正製薬株式会社

特願2003-004251

出願人履歴情報

識別番号 [000232623]

1. 変更年月日 1990年 8月 9日

[変更理由] 新規登録

住所 東京都中央区日本橋1丁目2番5号
氏名 日本農薬株式会社